

土壤蔗糖酸性转化酶(S-AI)试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SYHA2-C24	土壤蔗糖酸性转化酶(S-AI)试剂盒	24T	常量法
SYHA2-C48		48T	

一、测定意义

酸性转化酶活性是评估土壤健康状况的重要指标，酸性转化酶参与土壤中有机质的分解，促进碳、氮、磷等养分的释放和循环，对植物生长至关重要。土壤酸性转化酶的测定在土壤健康评估、养分循环、肥力评估、污染监测、土壤管理、生态恢复和科学研究中具有重要意义，有助于优化土壤管理和提高农业生产力。

二、测定原理

土壤蔗糖酸性转化酶(S-AI)催化蔗糖水解生成还原糖（葡萄糖和果糖），还原糖与 3,5-二硝基水杨酸反应生成有色化合物，通过比色法测定其浓度，在 540nm 波长处测定吸光度值。

三、试剂组成

试剂名称	试剂装量（24T）	试剂装量（48T）	保存条件
甲苯	自备	自备	常温
试剂一	25mL×1 瓶	30mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂二应用液的配制：每瓶粉剂中加入 60mL 蒸馏水，充分溶解，2-8℃保存			
试剂三	30mL×1 瓶	50mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品粉剂	10mg×1 支	10mg×1 支	2-8℃保存
10mg/mL 标准品的配制：用时一支粉剂中加入 1mL 蒸馏水，混匀，2-8℃保存			

四、操作步骤

一、样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

二、操作步骤

1、培养反应：

	测定管	对照管	基质管
土样（g）	0.1	0.1	-
甲苯（μL）	50	50	50
震荡混匀，使土样全部湿润，室温静置 15min			
试剂一（μL）	250	250	250
蒸馏水（μL）	-	750	-
试剂二应用液（μL）	750	-	750

混匀，37℃孵育 24h 后，混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。

2、显色反应：（标准品稀释详见附录）

	测定管	对照管	基质管	标准管
稀释后的上清液（μL）	100	100	100	-
不同浓度的标准品（μL）	-	-	-	100
试剂三（μL）	300	300	300	300
混匀，沸水浴 5min，流水冷却				
蒸馏水（μL）	1000	1000	1000	1000

混匀，波长 540nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管；

五、单位定义与计算：

单位定义：每天每克风干土壤中产生 1mg 还原糖为一个酶活力单位

计算公式：根据标准曲线，将各管吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y(mg/mL)

$$S-SC(U/g \text{ 土样})= (Y_{\text{测定管}} - Y_{\text{对照管}} - Y_{\text{基质管}}) \times V_{\text{反总}} \div W \div T$$

T：反应时间，1d；

V_{反总}：反应体系总体积,1.0mL；

W：样本质量，0.1g。

六、注意事项：

- 1、比色时，溶液呈现橙色，在 1h 内保持稳定。
- 2、不同土壤样本的蔗糖酶差异较大，先做预实验确认样本稀释倍数，一般条件下测定管需要 1-10 倍稀释，对照管和基质管无需稀释。
- 3、沸水浴时，应盖紧盖子，防止漏液。
- 4、标准曲线可用于参考，不同实验条件下，测定结果趋势不变，但数据值可能会存在一定的差异性。
- 5、因需要使用甲苯，故尽量在通风条件下进行；
- 6、若是称重的时候不能保证测定管和对照管重量固定，可将计算公式分解后带入计算。

附录 I：土壤蔗糖酸性转化酶(S-AD)标准曲线的制备

1、前处理：

将 10mg/mL 的标准品用蒸馏水稀释成 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1mg/mL 标准液进行标准曲线的制备。

2、操作表：

标准品浓度（mg/mL）	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
不同浓度标准品（ μ L）	100	100	100	100	100	100
试剂三（ μ L）	300	300	300	300	300	300
混匀，沸水浴 5min，流水冷却						
蒸馏水（ μ L）	1000	1000	1000	1000	1000	1000

混匀，波长 540 nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。